

5 IZVEŠTAJ O OCENI ZAVRŠENE DOKTORSKE DISERTACIJE

6 I PODACI O KOMISIJI:

7 1. Datum i naziv organa koji je imenovao komisiju:

8 Komisiju je dana 24.03.2021. godine imenovalo Nastavno-naučno veće Fakulteta
9 veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu.

10 2. Sastav komisije sa naznakom imena i prezimena svakog člana, zvanja, naziva uže
11 naučne oblasti za koju je izabran u zvanje, godinom izbora u zvanje i naziv fakulteta,
12 ustanove u kojoj je član komisije zaposlen:

13 **Napomena:** redosled članova Komsije je takav da se prvo navode nastavnici sa FVM a zatim članovi iz drugih
14 institucija, sem u slučaju kada je mentor disertacije iz druge institucije. Tada se mentor iz druge institucije upisuje
15 pod rednim brojem 2, odnosno posle mentora sa FVM koji je pod rednim brojem 1.

- 16 1. Milica Kovačević Filipović, redovni profesor za užu naučnu oblast Patološka fiziologija na
17 Fakultetu veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu, 2016. godine.
18 2. Jelena Ajtić, redovni profesor za užu naučnu oblast Fizika i biofizika na Fakultetu
19 veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu, 2020. godine.
20 3. Tamara Ilić, vanredni profesor za užu naučnu oblast parazitologija na Katedri za
21 parazitologiju, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu, 2015. godine.
22 4. Snežana Tomanović, naučni savetnik, uža naučna oblast medicinska entomologija,
23 Institut za medicinska istraživanja, Univerzitet u Beogradu, 2018. godine.
24 5. Andjelo Beletić, naučni saradnik u oblasti Prirodno-matematičkih nauka-Biologija, Centar
25 za medicinsku biohemiju, Univerzitetski klinički centar Srbije, 2020. godine.

26 II PODACI O KANDIDATU:

27 1. Ime, ime jednog roditelja, prezime: Filip, Miladin, Janjić

28 2. Datum rođenja, opština, Republika: 04.05.1989. Smederevo, Srbija

29 3. Datum odbrane, mesto i naziv magistarske teze*:

30 4. Naučna oblast iz koje je stečeno akademsko zvanje magistra nauka*:

31 III NASLOV DOKTORSKE DISERTACIJE:

32 Odgovor akutne faze kod pasa obolelih od babezioze tokom različitih godišnjih doba i veza
33 pojave akutnog oboljenja sa meteorološkim parametrima

34 IV PREGLED DOKTORSKE DISERTACIJE (navesti broja strana poglavlja, slika, šema,
35 grafikona i sl.):

36 Doktorska disertacija je napisana na 103 strana i sadrži sledeća poglavlja: Uvod (dve strane),
37 Pregled literature (28 strana), Ciljevi i zadaci (dve strane), Materijal i metode (šest strana),
38 Rezultati (28 strana), Diskusija (10 strana), Zaključci (dve strane), Literatura (25 strane).
39 Naslovne strane doktorske disertacije koje obuhvataju naziv na srpskom i engleskom jeziku,
40 imena mentora i članova komisije, zahvalnica, sažetak na srpskom i engleskom jeziku i
41 sadržaj date su na prvih 10 strana koje nisu numerisane. Pored navedenog, na poslednjih pet
42 strana je navedeno i bibliografsko posredovanje.

1 strana doktorske disertacije nalazi se Biografija kandidata, Izjava o autorstvu, Izjava o
2 istovetnosti štampane i elektronske verzije rada i Izjava o korišćenju i te strane nisu
3 numerisane. Doktorska disertacija je dokumentovana sa 12 tabela, 24 grafikona i jednom
4 slikom.

5

6

7 **V VREDNOVANJE POJEDINIХ DELOVA DOKTORSKE DISERTACIJE (dati kratak opis**
8 **svakog poglavlja disertacije: uvoda-do 250 reči, pregleda literature-do 500 reči, cilja i**
9 **zadataka istraživanja-nije ograničeno, materijal i metoda – nije ograničeno, rezultata –**
10 **nije ograničeno, diskusije-do 100 reči, spiska referenci-navesti broj referenci u**
11 **doktorskoj disertaciji):**

12

13 U **Uvodu** je ukratko opisan predmet istraživanja i osnovne hipoteze. Naime, opisano je da je
14 akutna babezioza pasa sezonsko oboljenje koje se javlja u sezonomama u kojima su
15 meteorološki uslovi pogodni za aktivnost krpelja-vektora, *Dermacentor reticulatus*. Ukazano je
16 da je ispitivanje sezonalnosti babezioze pasa sprovedeno u brojnim zemljama Evrope, ali ne i
17 u Srbiji, odnosno na teritoriji Beograda, te da je poznato da se značajan broj slučajeva beleži i
18 tokom zimskih meseci kada je prosečna temperatura značajno niža od optimalne za aktivnost
19 *D. reticulatus*. Pored temperature, i drugi parametri, poput vlažnosti vazduha, količine
20 padavina, vazdušnog pritiska i oblăčnosti, mogu uticati na aktivnost i životni ciklus krpelja.
21 Naglašeno je da je iz tih razloga, u doktorskoj disertaciji ispitana povezanost meteoroloških i
22 epizootioloških parametara koji karakterišu sezonu u kojima se ovo oboljenje javlja na teritoriji
23 Beograda. Takođe je naglašeno da postoji hipoteza da tokom sezone u kojoj je aktivnost
24 krpelja najviša, psi mogu biti izloženi višestrukim ubodima onih koji su inficirani *B. canis*, što
25 za posledicu može imati veći intenzitet inflamacije kod pasa.

26

27 U **Pregledu literature**, u prvom poglavlju je opisana babezioza pasa. Prvo je opisan životni
28 ciklus etiološkog faktora - *B. canis*, odnosno stadijumi razvoja ove protozoe i navedeno je da
29 zahteva dva domaćina, krpelja i sisara. Potom je opisana patogeneza akutne babezioze pasa
30 izvane *B. canis*, sa posebnim osvrtom na nastanak anemije. Nakon toga, opisan je značaj
31 urođenog i stečenog imunskog odgovora, kliničko-patološke promene kod nekomplikovane i
32 komplikovane forme bolesti, dijagnostika babezioze putem krvnog razmaza, tehnike lančane
33 reakcije polimeraze i seroloških testova, terapija i profilaksa. U sledećem, drugom poglavlju,
34 opisan je životni ciklus *D. reticulatus*-a, meteorološki faktori koji utiču na njegovu aktivnost i
35 dijapauzu, kao i mogućnosti horizontalnog i vertikalnog prenošenja *B. canis* između krpelja.
36 Nakon toga, u trećem poglavlju je detaljnije opisana reakcija akutne faze kao brz i
37 nespecifičan odgovor organizma na oštećenje tkiva, proteini akutne faze, među kojima je
38 istaknut serum amiloid A (SAA), ceruloplazmin (CER), albumin i paraoksonaza 1 (PON1).
39 Potom je opisana regulacija homestaze gvožđa, i regulacija njegovog metabolizma tokom
40 inflamacije, jer je gvožđe negativni akutno fazni reaktant. Kao posebno potpoglavlje, opisana
41 je veza hemostaze i reakcije akutne faze uz objašnjenje uloge prokoagulantnih i
42 antikoagulantnih materija koje se nalaze u krvi. Potom je u četvrtom poglavlju definisana
43 sepsa i sindrom sistemskog inflamatornog odgovora (SIRS), navedeni su aktuelni kliničko-
44 laboratorijski kriterijumi za definisanje sepsie i SIRS-a kao entiteta koji definišu tešku akutnu
45 inflamaciju, kao i promene proteina akutne faze vezane za sepsu. Posebno potpoglavlje je
46 posvećeno podacima vezanim za babeziozu i pojavu sepsie. Peto poglavlje u okviru uvoda
47 posvećeno je klimi, klimatskim promenama i njihovom uticaju na promene rasprostranjenosti
48 biljnog i životinjskog sveta. Definisana je klima, i ukratko izloženo da je temperatura vazduha
49 jedan od glavnih faktora koji utiče na klimu i njene promene. Navedeni su mehanizmi kojima
50 se vrste prilagođavaju tim promenama, i kao primer dato je proširenje granice geografske
51 rasprostranjenosti krpelja *D. reticulatus* zabeleženo u poslednjih nekoliko decenija.

52

53 U **Ciljevima i zadacima** definisana su dva cilja. Kao prvi cilj je navedeno utvrđivanje broja
54 slučajeva babezioze pasa sa kliničkom slikom akutnog oboljenja u različitim sezonomama tokom
55 godine, kao i ispitivanje povezanosti učestalosti pojave babezioze i meteoroloških
56 parametara. Za ostvaranje tog cilja su postavljeni sledeći zadaci: 1) formiranje jedinstvene
57 baze dijagnostikovanih slučajeva akutne babezioze pasa tokom četiri godine (2013–2016) u
58 dve veterinarske ustanove na teritoriji Beograda; 2) prikupljanje meteoroloških parametara u
59 Beogradu za period 2013–2016. godine; 3) statistička obrada podataka. Kao drugi cilj
60 postavljeno je ispitivanje težine odgovora akutne faze kod pasa obolelih od akutne babezioze,

a u različitim sezonama. Da bi se ostvario drugi cilj, postavljeni su sledeći zadaci: 1) beleženje kliničkih znakova bolesti kod pasa kod kojih se sumnja da imaju akutnu babeziozu; 2) pregled krvnih razmaza svetlosnom mikroskopijom, i beleženje prisustva velikih babezija; 3) beleženje rezultata rutinskih hematoloških i biohemijskih analiza; 4) korišćenje viška pune krvi za molekularnu detekciju vrste babezije koja se sprovodi u komercijalnoj laboratoriji; 5) upotreba viška seruma za određivanje proteina akutne faze, proteinskih frakcija elektroforezom na agaroznom gelu i ispitivanje prisustva IgG antitela protiv *B. canis* u serumu ispitivanih pasa uz pomoć komercijalnih seroloških testova; 6) statistička obrada podataka.

U Materijalu i metodama je opisan geografski položaj Beograda i klimatske i meteorološke karakteristike dobijene od Republičkog hidrometeorološkog zavoda Srbije. Potom je naveden način evidencije slučajeva dijagnostikovane babezioze u periodu 2013–2016, kao i kriterijumi za uključivanje pasa u studiju tokom 2017–2019 godine. Za studiju tokom 2017–2019 korišćena su dva kriterijuma za formiranje grupa pasa: jedan je prisustvo SIRS-a, a drugi sezona pojave oboljenja. Navedeno je da su hematološke i biohemijske analize izvedene rutinskim laboratorijskim metodama na automatskim analizatorima, a da je krvni razmaz korišćen za brzu potvrdu infekcije pasa velikom babezijom. Potom je ukratko opisana metoda elektroforeze na agaroznom gelu koja je omogućila razdvajanje i kvantifikovanje albumina i globulinskih frakcija. Nakon toga su ukratko opisani imuno-enzimski test (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay – ELISA*) za SAA, spektrofotometrijske metode za određivanje koncentracije CER i PON1, kao i određivanje koncentracije fibrinogena metodom zagrevanja uz precipitaciju. Posebno je opisano izračunavanje indeksa reaktanata akutne faze (IRAF). Ukratko su opisane i serološke analize kojima su detektovani *B. canis* seropozitivni i seronegativni psi, kao i molekularna dijagnostika prisustva ispitivane protozoe. Na kraju ove glave navedene su metode statističke obrade podataka. Spirmanovi koeficijenti korelacije izračunati su za broj dijagnostikovanih slučajeva i vrednosti meteoroloških parametara merenih do godinu dana ranije. Potom su navedene i ostale statističke metode obrade podataka: descriptivna statistika, *Man-Whitney* test, *Kruskal-Wallis*, kao i univariatna i multivariatna logistička regresiona analiza.

U Rezultatima su prikazane tri celine u posebnim poglavljima. U prvom poglavlju je na osnovu podataka za 2013–2016. godinu, opisana povezanost pojave akutne babezioze pasa sa sledećim meteorološkim parametrima: temperatura, relativna vlažnost vazduha, atmosferski pritisak, oblačnost i količina padavina. Kalendarska godina je na osnovu broja dijagnostikovanih slučajeva podeljena na četiri sezone: januar–februar (prva polovina), februar (druga polovina)–maj, jun–septembar i oktobar–decembar. Najveći broj slučajeva zabeležen je u sezoni februar–maj, a nešto niži tokom sezone oktobar–decembar. U najtopljoj sezoni jun–septembar, babezioza pasa registrovana je samo sporadično. Ispitana je zavisnost pojave oboljenja od kombinacije temperature i relativne vlažnosti vazduha koje su merene dve nedelje ranije. Navedeni su rasponi ovih parametara koji su povoljni za pojavu babezioze pasa u svakoj od sezona. Spirmanovi koeficijenti korelacije su pokazali da najveći dugoročan uticaj na pojavu babezioze pasa imaju temperatura i relativna vlažnost. Na primer, za sezonusa maksimalnim brojem slučajeva, februar–maj, dobijeno je da je pad temperature u periodu do četiri nedelje pre pojave oboljenja, povezan sa većim brojem slučajeva. Takođe je pokazano da je sa porastom temperature i padom relativne vlažnosti u periodu od četiri do osam meseci pre navedene sezone (što odgovara prethodnom zimskom i jesenjem periodu), broj slučajeva babezioze bežežio rast. Za istu sezonu je utvrđeno da je broj slučajeva babezioze bio viši što su temperature bile niže u istoj sezoni prethodne godine.

U drugoj celini prikazani su rezultati koji bliže definišu hematološke i biohemijske promene kod pasa kod kojih je definisano prisustvo SIRS-a. Pokazano je da je kod pasa sa SIRS-om duplo manji broj leukocita ($P<0,001$), neutrofilnih granulocita ($P<0,001$), limfocita ($P<0,028$) i monocita ($P<0,001$), pri čemu se parametri crvene krvne slike i broj trombocita nisu razlikovali. Feremija je bila za 50% niža kod pasa sa SIRS-om ($P<0,044$). Slično je uočeno i za ukupni bilirubin ($P=0,046$). Koncentracije SAA, CER i PON1 se nisu razlikovale, kao ni odgovarajući IRAF. Nivo parazitemije je takođe bio podjednak između dve grupe pasa. Takođe, analizirane su i razlike između seropozitivnih i seronegativnih pasa. Uočeno je da su od svih analiziranih parametara jedno broj limfocita ($P<0,011$) i monocita manji ($P<0,039$), a parazitemija veća ($P<0,010$) kod pasa koji su seronegativni na *B. canis*.

U trećoj celini su prikazani rezultati promena laboratorijskih parametara kroz prethodno definisane sezone. Pokazano je da je prosečna koncentracija hemoglobina u eritrocitima bila

1 najniža u sezoni oktobar-decembar ($P=0,044$), dok se ni jedan drugi parametar krvne slike
2 nije razlikovao između sezona. Broj pasa sa prisustvom i odsustvom SIRS-a, prema
3 prethodno definisanom kriterijumu, bio je podjednak među sezonomama. Nasuprot tome, u
4 sezoni februar-maj, koncentracije ukupnih proteina ($P=0,040$), albumina ($P<0,001$) i kreatinina
5 ($P=0,010$) su bile za oko 25% niža u odnosu na druge dve sezone. Razlika je bila još
6 izraženija kod ferenije, gde je medijana bila duplo niža ($P<0,001$). Aktivnost alkalne fosfataze
7 je bila tri put viša u sezoni januar-februar ($P<0,001$). Porast amilaze je bio najmanje izražen u
8 sezoni oktobar-decembar. Među pojedinačnim proteinima akutne faze nije bilo većih
9 odstupanja u pojedinim sezonomama, ali su dva izračunata IRAF pokazala da su njihove
10 vrednosti značajno više u sezoni februar-maj. U toj sezoni je nivo paraziteme bio najniži.
11 Multivariantnom logističkom regresijom je utvrđeno da su sniženja koncentracije albumina i
12 gvožđa nezavisno povezana sa sezonom februar-maj. Univariantnom logističkom regresijom
13 pokazano da je za istu sezonomu karakteristična verovatnoća povećanja IRAF za 25 do 60 puta
14 u odnosu na druge dve sezone. U ovoj celini su takođe prikazane razlike u hematološkim i
15 biohemijskim parametrima pasa obolelih od akutne infekcije *B. canis* koje se odnose na pol,
16 rasu, i starost.

17
18 U **Diskusiji** su formirane četiri celine: povezanost pojave akutne babezioze sa meteorološkim
19 parametrima, karakteristike inflamatornog odgovora kod akutne babezioze vezane za
20 prisustvo SIRS-a, karakteristike inflamatornog odgovora kod akutne babezioze pasa u
21 različitim sezonomama i promene hematoloških i biohemskihs parametara kod akutne babezioze
22 pasa vezane za pol, rasu i starost. Svaka celina sadrži objašnjenja vezana za sve ispitivane
23 parametre koji su pokazali značajne razlike između pojedinih grupa pasa, kao i navode iz
24 literature koji ih potkrepljuju. Diskusija takođe sadrži veoma originalna zapažanja kadidata
25 vezana za objašnjenje mogućih razlika u intenzitetu odgovara akutne faze između pojedinih
26 sezona.

27
28 U **Literaturi** su navedene 374 bibliografske jedinice.

29
30 **VI ZAKLJUČCI ISTRAŽIVANJA (navesti zaključke koji su prikazani u doktorskoj
31 disertaciji):**

- 32
33 1. Na osnovu broja slučajeva akutne babezioze kod pasa na teritoriji grada Beograda može
34 se izvesti podela kalendarske godine na četiri sezone: januar–februar (prva polovina),
35 februar (druga polovina)–maj, jun–septembar i oktobar–decembar. Najveći broj slučajeva
36 se javlja tokom kasne zime i proleća i tokom jeseni, te se može zaključiti da je distribucija
37 pojave ovog oboljenja bimodalna.
- 38
39 2. Kombinacija temperature i relativne vlažnosti koja odgovara pojavi babezioze u pojedinim
40 sezonomama je sledeća: januar–februar kombinacija temperature između -4 °C i $6,5$ °C i
41 relativne vlažnosti (68–87) %; februar–maj, temperatura (3–16) °C pri relativnoj vlažnosti
42 (53–87) %; jun–septembar, temperatura (15–25) °C pri relativnoj vlažnosti (55–77) %;
43 oktobar–decembar, temperatura (2–18) °C pri relativnoj vlažnosti (62–90) %.
- 44
45 3. Na pojavu oboljenja u sezoni sa najvećim brojem slučajeva, februar–maj, temperatura i
46 relativna vlažnost vazduha u godini koja je prethodila pojavi oboljenja, pokazuju dugoročni
47 uticaj. Smanjenje temperature tokom četiri nedelje pre nastanka oboljenja značajno
48 korelira sa povećanjem broja slučajeva. Povećanje temperature i smanjenje relativne
49 vlažnosti vazduha tokom prethodne zime i jeseni (16–30. nedelja pre nastanka oboljenja),
50 povezano je sa pojmom većeg broja slučajeva. Smanjenje temperature krajem proleća i
51 početkom leta prethodne godine (40–50. nedelja pre nastanka oboljenja) kao i povećanje
52 relativne vlažnosti vazduha (44. i 45. nedelja pre oboljenja) takođe korelira sa povećanjem
53 broja slučajeva.
- 54
55 4. Klinički slučajevi infekcije pasa *B. canis* ispitani su u sezonomama januar–februar, februar–
56 maj i oktobar–decembar. Odnos broja pasa sa i bez SIRS-a, kao i odnos seroreaktivnih i
57 seronegativnih pasa nije se razlikovao između sezona. Parazitemija je bila najniža u
58 sezoni februar–maj.

59

- 1 5. Više vrednosti indeksa reaktanata akutne faze ukazuju na jači inflamatorni odgovor u
2 sezoni februar-maj u odnosu na druge dve sezone.
3
4 6. Promene u koncentracijama albumina i kreatinina ukazuju da ukoliko se akutna infekcija
5 *B. canis* javlja u sezoni februar-maj, patogenezu karakteriše hemodilucija, dok druge dve
6 sezone karakteriše dehidracija.
7
8 7. Kombinacija visokih vrednosti indeksa reaktanata akutne faze i hemodilucije u sezoni
9 februar-maj ukazuje da se bolest razvija brže u odnosu na druge dve sezone.

10 **VII OCENA NAČINA PRIKAZA I TUMAČENJA REZULTATA ISTRAŽIVANJA** (navesti da li
11 su dobijeni rezultati u skladu sa postavnjеним ciljem i zadacima istraživanja, kao i da li
12 zaključci proizilaze iz dobijenih rezultata):
13

14 Komisija smatra da su dobijeni rezultati ispitivanja prikazani u ovoj doktorskoj disertaciji u
15 skladu sa postavljenim ciljevima i zadacima istraživanja, kao i da zaključci proizilaze iz
16 dobijenih rezultata.
17

18 **VIII KONAČNA OCENA DOKTORSKE DISERTACIJE:**
19

20 **1. Da li je disertacija napisana u skladu sa obrazloženjem navedenim u prijavi teme?**
21

22 Doktorska disertacija napisana je u skladu sa obrazloženjem navedenim u prijavi teme.
23

24 **2. Da li disertacija sadrži sve elemente propisane za završenu doktorsku disertaciju?**
25

26 Doktorska disertacija sadrži sve elemente propisane za završenu doktorsku disertaciju.
27

28 **3. Po čemu je disertacija originalan doprinos nauci?**
29

30 Ovo je prva studija koja pokazuje sezonalnost pojave akutne babezioze pasa na teritoriji
31 Beograda, kao i postojanje određene kratkoročne i dugoročne veze između meteoroloških
32 parametara i sezonske pojave babezioze. Takođe, ovo je prva studija koja pokazuje razlike u
33 inflamatornom odgovoru kod pasa inficiranih *B. canis* u različitim sezonom. Ti rezultati
34 otvaraju nova pitanja vezana za razvoj i razmnožavanje *B. canis* u krpeljima, kao i pitanja
35 vezana za fluktuacije u imunskom odgovoru pasa tokom različitih sezona.
36

37 **4. Da li je mentor tokom provere originalnosti disertacije utvrdio neoopravdano
38 preklapanje teksta sa drugim publikacijama (odgovoriti sad a ili ne):**
39

40 Ne
41

42 **IX SPISAK NAUČNIH RADOVA SADRŽINSKI POVEZANIH SA DOKTORSKOM
43 DISERTACIJOM U KOJIMA JE DOKTORAND PRVI AUTOR ODNOŠNO AUTOR SA
44 NAJVEĆIM DOPRINOSOM** (napisati imena svih autora, godinu objavlјivanja, naslov
45 rada, naziv časopisa, impakt faktor i klasifikaciju prema Pravilniku o postupku, načinu
46 vrednovanja, i kvantitativnom iskazivanju naučnoistraživačkih rezultata istraživača):
47

48 Janjić Filip, Sarvan Darko, Tomanović Snežana, Ćuk Jelena, Krstić Vanja, Radonjić Vladimir,
49 Kovačević Filipović Milica, Ajtic Jelena, 2019. A short-term and long-term relationship
50 between occurrence of acute canine babesiosis and meteorological parameters in Belgrade,
51 Serbia. Ticks and tick-borne diseases 10, 101273.
52

53 **Impakt faktor časopisa: 2,749.**
54

55 Rad u međunarodnom časopisu M21 kategorije.
56

1
2
3
4
5 **X PREDLOG:**

6
7 **Na osnovu ukupne ocene disertacije, komisija predlaže (odabratи jednu od tri**
8 **ponuđenih mogućnosti):**

9
10 da se doktorska disertacija prihvati a kandidatu odobri odbrana

11
12 DATUM

POTPISI ČLANOVA KOMISIJE

18 Dr Milica Kovačević Filipović, redovni profesor
19 Fakultet veterinarske medicine
20 Univerzitet u Beogradu

23 Dr Jelena Ajtić, redovni profesor
24 Fakultet veterinarske medicine
25 Univerzitet u Beogradu

29 Dr Tamara Ilić, vanredni profesor
30 Fakultet veterinarske medicine
31 Univerzitet u Beogradu

35 Dr Snežana Tomanović, naučni savetnik
36 Institut za medicinska istraživanja
37 Univerzitet u Beogradu

41 Dr Anđelo Beletić, naučni saradnik
42 Centar za medicinsku biohemiju
43 Klinički centar Srbije